La mappatura genetica è un processo che ci consente di determinare la posizione dei geni sul cromosoma. Sebbene non ci fornisca il nucleotide preciso in cui si trova un gene, ci dà un'idea della sua localizzazione e dell'ordine in cui i geni sono disposti sul cromosoma.

Ci interessa mappare i geni per diversi motivi:

* Interesse di tipo evolutivo: La mappatura genetica ci permette di confrontare il nostro genoma con quello di altre specie per individuare le differenze. Questo può fornire informazioni preziose sull'evoluzione e sulla diversità genetica tra le specie.
* Applicazioni pratiche: La mappatura genetica ha importanti applicazioni pratiche, in particolare nell'identificazione e isolamento dei geni associati a malattie ereditarie. Il restringimento della regione cromosomica in cui mappa un gene-malattia è il primo passo per la sua identificazione. Inoltre, l'individuazione della regione cromosomica in cui mappa un gene-malattia e il linkage con altri marcatori genetici possono essere utilizzati nella consulenza genetica indiretta. Questo tipo di consulenza genetica si basa sull'analisi della trasmissione dei marcatori genetici noti per dedurre la segregazione del gene-malattia, consentendo la diagnosi prenatale, la diagnosi presintomatica e la diagnosi dello stato di portatore quando il gene-malattia non è ancora stato clonato.

Nel processo di costruzione di una mappa genetica, viene definita la posizione relativa dei geni, ovvero la distanza tra di essi, stimata attraverso le frequenze di ricombinazione che avvengono durante il crossing over durante la meiosi. Durante la meiosi, i cromosomi omologhi subiscono eventi di crossing over che riassortiscono gli alleli presenti sui due omologhi. Questo permette di determinare la frequenza con cui avvengono le ricombinazioni genetiche tra i geni e di stimare le distanze genetiche tra di essi sulla base di queste frequenze di ricombinazione

Immagine che contiene diagramma

Descrizione generata automaticamente

Quando ci sono due loci eterozigoti (Aa e Bb) su cromosomi omologhi se sono localizzati ad una certa distanza, avverrà il fenomeno di crossing over che porterà alla formazione di gameti ricombinanti (formati durante il crossing over) e gameti parentali (hanno il genotipo uguale al genitore).

In genetica, considerando i geni associati A e B in un doppio eterozigote, sono possibili 2 diverse configurazioni:

*Cis: su un cromosoma*Immagine che contiene testo

Descrizione generata automaticamente

*Trans: sono alternati su due cromosomi omologhi*

I fenotipi saranno i medesimi fra le due conformazioni, ma varia il numero.

**LINKAGE: METODO PER MAPPARE**

Il concetto di linkage si riferisce alla tendenza di due o più geni di essere ereditati insieme a causa della loro posizione sullo stesso cromosoma. Questi geni sono quindi collegati e tendono a segregare insieme, anziché seguire un assortimento indipendente.

L'analisi del linkage consente di determinare la posizione cromosomica di un locus responsabile di una particolare malattia o carattere genetico rispetto a marcatori polimorfici i cui loci sono già noti. Questo viene fatto attraverso lo studio delle frequenze di ricombinazione. La ricombinazione genetica avviene durante il crossing over durante la meiosi, dove i cromosomi omologhi si scambiano porzioni di DNA. La frequenza di ricombinazione tra due loci genetici fornisce una stima della distanza genetica tra di essi.

Il concetto di linkage si basa sul principio che i geni su cromosomi diversi si segregano nei gameti in maniera indipendente. Tuttavia, quando due geni si trovano sullo stesso cromosoma e sono strettamente legati, la loro segregazione segue un modello di linkage anziché un assortimento indipendente.

L'analisi del linkage viene utilizzata per determinare la posizione cromosomica di un locus responsabile di un carattere genetico rispetto a marcatori di riferimento di cui è già nota la posizione. Lo studio dell'ereditarietà del locus di interesse in relazione al marcatore consente di stabilire la sua posizione relativa.

Per mappare correttamente due geni in relazione l'uno all'altro e determinare i tipi di ricombinazione, è necessario conoscere almeno due alleli per entrambi i geni. Questo perché un evento di crossing over può essere rilevato solo in individui che sono doppio eterozigoti, ovvero eterozigoti per entrambi i loci in esame.

In un crossing over ideale, la proporzione tra geni non ricombinanti e geni ricombinanti è di circa il 50% ciascuno. Questo ci fornisce un punto di riferimento per valutare le frequenze di ricombinazione e determinare la distanza genetica tra i loci sulla base delle ricombinazioni osservate. La probabilità che avvenga un evento di ricombinazione tra due loci si chiama **frazione di ricombinazione** (θ).

La frazione di ricombinazione può essere considerata una misura di distanza genetica.

Nel caso ideale, θ = 0.5.

Due geni molto distanti, avranno maggiore probabilità di subire il crossing over. Se il crossing over avverrà in posizione centromerica, porterà i geni a segregare in maniera associata (potrebbe dare una progenie parentale; θ < 50%).

Frequenza di ricombinazione 50% = I geni assortiscono indipendentemente (si trovano su cromosomi diversi o distanti).

Frequenza di ricombinazione 0 < θ < 50% = associazione incompleta (si trovano sullo stesso cromosoma).

Frequenza di ricombinazione 0% = associazione completa.

Se i due loci sono sintenici (=cromosoma) i ricombinanti si produrranno solo se avviene il crossing over che separa gli alleli presenti nei gameti parentali. DUE LOCI SONO IN LINKAGE QUALORA θ ≤ 50%.

* Coppie di geni possono mostrare sia linkage che assortimento indipendente;
* Geni che segregano indipendentemente sono su differenti cromosomi;
* Geni che mostrano linkage completo o incompleto sono sullo stesso cromosoma;
* Gruppi di geni che mostrano linkage(a coppie) sono tutti sullo stesso cromosoma.

*Su questi principi si basa la costruzione della mappa genetica.*

Il principio del linkage fu scoperto da Thomas Hunt Morgan grazie agli esperimenti condotti sulla mosca della frutta, Drosophila melanogaster.

Immagine che contiene diagramma

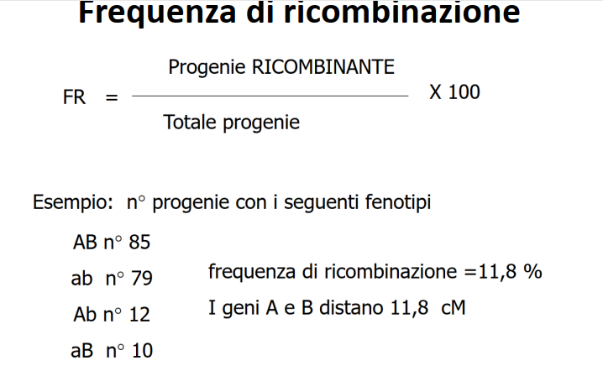
Descrizione generata automaticamente

Morgan utilizzò il fenomeno del crossing over per determinare la posizione e l'ordine di tre geni specifici nella Drosophila: black (colore del corpo), Vg (ali vestigiali) e cn (occhi rossi). Attraverso l'osservazione della ricombinazione genetica che avveniva durante la meiosi, Morgan fu in grado di stabilire la distanza relativa tra questi geni e l'ordine in cui erano disposti sul cromosoma.

Per misurare queste distanze genetiche, Morgan introdusse il concetto di unità di mappa o centiMorgan (cM). Un centiMorgan rappresenta una lunghezza genetica in cui si osserva in media una frequenza di ricombinazione dell'1% durante la meiosi. In altre parole, un centiMorgan rappresenta la distanza tra due geni in cui si prevede che avvenga un evento di ricombinazione durante la meiosi in circa l'1% dei casi.

Tuttavia, è importante notare che le distanze di mappa genetiche non sono sempre additive. Ciò significa che la somma delle distanze tra due geni può non corrispondere alla distanza totale misurata sperimentalmente. Ciò è dovuto al fatto che gli eventi di crossing over possono essere sottostimati o sovrastimati in determinate regioni del cromosoma.

Grazie agli esperimenti di Morgan sulla Drosophila e all'utilizzo del principio del linkage, si aprì la strada alla mappatura genetica e alla comprensione delle relazioni tra geni e cromosomi.



Se affermiamo che due geni hanno una frequenza di ricombinazione del 17%, questo implica che hanno una distanza di mappa di 17 u.m.

La distanza che otteniamo è un valore approssimativo che deve essere avvalorata da calcoli statistici.

**STIMA DELLA DISTANZA GENETICA TRA LOCI** (abbiamo genotipizzato alcuni loci)

Dall'analisi del genotipo, è possibile determinare chi è ricombinante e chi ha un genotipo non ricombinante (parentale).Immagine che contiene diagramma, schematico

Descrizione generata automaticamente

Le distanze di mappa genetica sono generalmente additive, ma ci sono eccezioni. Le frequenze di ricombinazione tra loci molto distanti non sono sempre additive a causa dell'effetto dei crossing-over multipli. Quando la distanza tra due loci aumenta, la probabilità che si verifichino più crossing-over tra di essi aumenta, il che può influire sulla somma delle distanze di mappa.

I doppi crossing-over che avvengono tra i due geni esterni spesso non vengono rilevati, causando una sottostima della reale distanza di mappa. Questo fenomeno può influenzare la precisione della mappatura genetica. Tuttavia, l'analisi di linkage a più punti può essere utilizzata per ordinare una serie di loci in base al numero minore di ricombinazioni, migliorando così la stima delle distanze genetiche.

È importante considerare anche il fenomeno dell'interferenza, in cui il doppio crossing-over può influire sulla configurazione genetica originale. Questo fenomeno può limitare il numero di ricombinazioni che si verificano in una determinata regione cromosomica.

Inoltre, è importante notare che i crossing-over possono mostrare una propensione di genere, con frequenze diverse tra uomini e donne. Inoltre, la frequenza di ricombinazione può variare lungo il genoma. Alcune regioni cromosomiche, chiamate hot spots, mostrano una frequenza di crossing-over superiore alla media, mentre in altre regioni (cold spots) la frequenza può essere inferiore.

**MAPPE GENETICHE, CITOLOGICHE E FISICHE**

Mappe genetiche → basate sulla frequenza di ricombinazione

Mappe citologiche→ basate sul bandeggio del cromosoma (si suddivide il cromosoma in regioni)

Mappe fisiche → ordina i geni e i marcatori lungo il cromosoma e assegna la reale distanza (espressa in bp o multipli) tra un locus e un altro.

*Ricorda: la distanza di mappa non è una distanza fisica, ma genetica*

La sequenza nucleotidica (interpretata come la mappa fisica a più alta risoluzione) indica l’esatta sequenza nucleotidica che separa due loci. Con il progetto GENOMA è divenuta disponibile la sequenza della quasi totalità del DNA umano.

*Il cerchio è il centromero. RFLP sono marcatori.*

Esistono diverse tipologie di mappe genetiche e fisiche utilizzate per individuare la posizione dei geni sui cromosomi:

* Mappa di restrizione: Questo tipo di mappa si basa sull'utilizzo di enzimi di restrizione che tagliano il DNA in posizioni specifiche. L'analisi dei frammenti di DNA generati da questi tagli permette di mappare la posizione dei geni.
* Mappa di STS (sequence-tagged site): Le STS sono sequenze di DNA conosciute che possono essere facilmente identificate e marcate. Queste sequenze servono come punti di riferimento per mappare la posizione dei geni lungo il cromosoma.Immagine che contiene diagramma

  Descrizione generata automaticamente
* Mappa di "conting" (o dei contigui): Questo tipo di mappa si basa sull'utilizzo di cloni di DNA che possono essere sovrapposti per ottenere una visione più completa della disposizione dei geni sui cromosomi.

Le mappe fisiche forniscono la posizione precisa dei geni sul cromosoma. Le mappe genetiche e fisiche possono avere lo stesso ordine dei geni, ma le distanze rappresentate sono diverse. Le mappe genetiche si basano sulla frequenza di ricombinazione tra i geni, mentre le mappe fisiche si basano sulla posizione fisica dei geni sul cromosoma.

È importante notare che gli eventi di crossing over non si verificano in maniera uniforme lungo il cromosoma. La frequenza di crossing over può variare a seconda delle regioni cromosomiche, ad esempio, può essere maggiore nelle regioni centromeriche rispetto a quelle telomeriche. Inoltre, la frequenza di crossing over può differire tra i sessi, con una frequenza più elevata nelle femmine rispetto ai maschi.

;

**MARCATORI MOLECOLARI PER MAPPE GENETICHE**

Sono utili sia per le analisi di associazione con geni responsabili di malattie, sia per determinare le frequenze di ricombinazione tra questi marcatori e i geni delle malattie. Immagine che contiene testo

Descrizione generata automaticamente

Il marcatore ideale per studi di mappatura genetica deve essere:

* analizzabile con una tecnica semplice e a basso costo;
* analizzabile su un materiale biologico facilmente reperibile;
* altamente polimorfico (possiamo vedere una differenza allelica fra i vari individui).

Oggi vengono utilizzati i minisatelliti, i microsatelliti e i polimorfismi a singolo nucleotide.

I mini e i microsatelliti li distinguiamo nel numero di ripetizione e in quanto sono espansi gli alleli. I minisatelliti hanno centinaia di basi ripetute, mentre i microsatelliti hanno 1-6 paia di basi ripetute diverse volte.

**POLIMORFISMI**

Le classi di polimorfismi del DNA che vengono utilizzati per il mappaggio sono i polimorfismi a singolo nucleotide (vi è la sostituzione di un unico nucleotide da un allele all’altro). Si stima che 1 ogni 20 nucleotidi circa nel DNA cambia (fatto da circa 3 miliardi di nucleotidi). Il polimorfismo non ha un effetto patologico.

I polimorfismi sono generalmente biallelici, cioè abbiamo un numero di alleli pari a 2.



**MICROSATELLITI E MINISATELLITI**

I microsatelliti, noti anche come STR (short tandem repeat), e i minisatelliti, chiamati VNTR (variable number tandem repeat), sono sequenze di DNA caratterizzate da ripetizioni di brevi unità di basi. Questi marcatori genetici si differenziano per il numero di ripetizioni presenti nella sequenza. Maggiore è la variabilità nel numero di ripetizioni, maggiore è la polimorficità del marcatore e maggiore è la sua utilità nell'analisi genetica.

I microsatelliti sono costituiti da brevi sequenze ripetute, ad esempio CACACACA. Sono utili nel processo di mappatura genetica in quanto è possibile analizzare la segregazione dei marcatori nelle diverse generazioni. Ogni allele di un microsatellite può presentare un numero variabile di ripetizioni dell'unità ripetuta (ad esempio, CA). Di conseguenza, i microsatelliti mostrano la presenza di multipli alleli, ovvero forme alternative dello stesso allele.Immagine che contiene tavolo

Descrizione generata automaticamente

La rilevazione dei microsatelliti avviene attraverso l'analisi della PCR (Polymerase Chain Reaction). I prodotti amplificati dalla PCR vengono separati mediante elettroforesi su gel capillare. È possibile determinare la dimensione dei prodotti amplificati e, quindi, il numero di ripetizioni del dinucleotide "CA" per ciascun allele. Questo permette di calcolare la frequenza degli alleli nella popolazione. La stessa tecnica viene utilizzata in medicina forense per stabilire la paternità di un individuo.

Gli SNP (Single Nucleotide Polymorphism) sono caratterizzati generalmente da due soli alleli nella popolazione, mentre gli STR presentano multipli alleli. Grazie al loro multiallelismo, i microsatelliti mostrano un'elevata eterozigosità nella popolazione.Immagine che contiene diagramma

Descrizione generata automaticamente

Quando si tratta di mappare un locus che presenta diversi alleli in una famiglia, è possibile analizzare la segregazione dei microsatelliti tra i membri della famiglia. Nonostante nella popolazione possano essere presenti multipli alleli per i microsatelliti, in ogni individuo ne sono presenti al massimo due. L'analisi dei picchi generati dai microsatelliti consente di determinare come i figli ereditano i marcatori dai genitori. Ad esempio, se un figlio avesse un allele A4 mentre il presunto padre ne avesse solo A1 e A2, la paternità sarebbe esclusa.

**LIVELLO DI POLIMORFISMO**

Contenuto d’informazione del polimorfismo (Polymorphism Information Content = PIC) = misura quantitativa della capacità di un polimorfismo di rendere meiosi informative per il linkage (probabilità di trovare famiglie con meiosi informative, ovvero, con ricombinazione).

È importante per identificare il marcatore per un buon mappaggio.

**TASSO DI MUTAZIONE**

Singola Sostituzione Nucleotidica (SNS): ≅10-9

Variable Number of Tandem Repeat (VNTR): minisatellite ≅ 10-2–10-3 ; microsatellite ≅ 10-3–10-4

Il genoma umano contiene una vasta diversità di polimorfismi, che possono essere utilizzati come marcatori per una serie di applicazioni nell'ambito della genetica delle popolazioni umane.

Oltre alle varianti di singola sostituzione nucleotidica (SNS), che sono estremamente rare con una frequenza di circa 1 su miliardo (≅10-9 ), esistono altre tipologie di modificazioni genetiche. Ad esempio, i minisatelliti e i microsatelliti sono regioni ripetute del DNA in cui il numero di ripetizioni può variare. I minisatelliti hanno una frequenza di variabilità più elevata ≅ 10-2–10-3, mentre i microsatelliti hanno una frequenza di variabilità leggermente inferiore, nell'ordine di ≅ 10-3–10-4

Oltre a queste ripetizioni, possono verificarsi anche altre modificazioni nel genoma umano, come delezioni, duplicazioni e inserzioni in loci non ripetuti. Questi eventi mutazionali possono essere causati da vari fattori, tra cui la ricombinazione meiotica durante la formazione dei gameti. Inoltre, elementi trasponibili che si integrano casualmente nel genoma possono causare inserzioni di dimensioni variabili, che vanno da centinaia a migliaia di basi.

Gli SNP, i microsatelliti, i minisatelliti e le modificazioni nei loci non ripetuti forniscono le basi per la mappatura genetica e per il riconoscimento delle differenze genotipiche tra gli individui, spesso indicato come "DNA fingerprinting". Questi marcatori sono utilizzati in una varietà di contesti, tra cui la ricerca di malattie genetiche, gli studi di associazione genetica e le analisi di parentela.

**IL MAPPAGGIO TRAMITE LINKAGE**

M= marcatoreImmagine che contiene diagramma

Descrizione generata automaticamente

M1 genera con il gene mutato ed M4 con il gene normale. Notiamo che in seconda generazione l’unico individuo affetto presenta il marcatore M1 e in terza generazione la stessa situazione. Siamo stati fortunati perché questo significa che abbiamo usato un marcatore molto simile al gene mutato.

Nella maggior parte dei casi, negli esami di linkage, si devono usare più marcatori.

Immagine che contiene diagramma, schematico

Descrizione generata automaticamente

In seconda generazione, nell’individuo affetto segrega M1, ma in terza generazione, il primo individuo non è affetto (questo significa che il marcatore non è molto vicino al gene).

Nel mappaggio, quindi, devo usare più marcatori (preferibilmente centromerici e telomerici) che mi permettano di vedere dove si trova il gene malattia. In questo caso, si utilizza un ulteriore marcatore N1 e notiamo che l’individuo in cui segrega N1 è affetto (il marcatore è associato al gene malattia).

Per poter classificare senza ambiguità un gamete come parentale o ricombinante è necessario avere informazioni su almeno 3 generazioni.

Altro esempio:

Immagine che contiene diagramma, schematico

Descrizione generata automaticamente

1. II-1 ha ricevuto dalla madre l’allele patologico del locus malattia e l’allele A1 del locus marcatore: i suoi gameti P sono quelli con le combinazioni (A1+allele Malattia) e (A2+allele normale).

R è quello ricombinante.

1. II-1 ha ricevuto dalla madre l’allele malattia ma non sappiamo se lo abbia ricevuto insieme all’allele A1 o all’allele A2 del marcatore.

Non sappiamo quali siano i suoi gameti P e quali gli R. Non possiamo sapere qual è quello ricombinante.

Il linkage richiede meiosi informative. Una meiosi si dice informativa quando possiamo individuare la fase dei due loci e si può individuare se il gene è paterno o ricombinante. La condizione minima perché la meiosi sia informativa è, quindi, che il genitore che trasmette la malattia sia doppio eterozigote per i due loci (se è omozigote per uno o entrambi non possiamo capire da chi proviene l’allele malattia).

Immagine che contiene testo

Descrizione generata automaticamente

Esempio (locus di una malattia AD):

1. Si assume che la malattia co-segreghi con l’allele 1 del marcatore A. Il padre, II-1, che ha trasmesso la malattia alla figlia III-1, è omozigote per il locus marcatore: i suoi alleli a questo locus non possono essere distinti.Immagine che contiene diagramma

   Descrizione generata automaticamente
2. La figlia ha ereditato dal padre l’allele malattia, ma può averlo ereditato insieme ad A1 OPPURE insieme ad A2 (cioè, non possiamo classificare lo spermatozoo che ha dato origine a III-1 come Parentale o come Ricombinante).

Immagine che contiene diagramma

Descrizione generata automaticamente

1. La figlia ha ereditato dal padre l’allele malattia INSIEME all’allele A1 del marcatore (cioè, lo spermatozoo che ha dato origine a III-1 era Parentale).

I genitori delle famiglie B) e C) sono uguali, ma la famiglia B) NON è informativa, mentre la C) lo è.

1. La figlia ha ereditato dal padre l’allele malattia INSIEME all’allele A2 del marcatore (cioè, lo spermatozoo che ha dato origine a III-1 era Ricombinante).Immagine che contiene diagramma, schematico

   Descrizione generata automaticamente

Queste famiglie sono SEMPRE informative.

Il conteggio dei ricombinanti non è semplice. Ciononostante, è possibile calcolare la verosimiglianza complessiva per le due ipotesi alternative che prevedono che i due loci siano concatenatio indipendenti (LodscoreZ).

Si utilizza questa tecnica e non il “chi quadro” perché sarebbe molto difficile calcolare i genotipi parentali nelle generazioni e pertanto si preferisce un’analisi di probabilità (verosimiglianza) grazie ai marcatori.

Aggiunta

Il test del “chi quadro” è l’indice di dispersione di Pearson e si calcola come: **χ2 =Σ (O – T)2/T.**

In cui

**Σ** è il segno di sommatoria

**O** indica i valori osservati

**T** indica i valori attesi in base all’ipotesi premessa

La differenza **O – T** può essere indicata come **d**.

Il suo valore ci permette di leggere in apposite tabelle il valore della probabilità che i valori osservati siano o meno in accordo con l’ipotesi premessa.

**ANALISI COMPUTERIZZATA DEL LODSCORE: PROBABILITÀ DI LINKAGE**

Una volta osservata la cosegregazione di un marcatore del gene malattia, si deve calcolare la probabilità che questa cosegregazione sia dovuta ad un’effettiva relazione fisica tra i loci e non al caso.

Si calcola la likelihood o verosimiglianza o meglio si calcola il rapporto tra la probabilità che i loci analizzati siano associati e la probabilità che i loci non siano associati.

Il log in base 10 di questo rapporto è il LODSCORE.

Per convenzione:

* LOD ≥ 3 (1000 probabilità a favore del linkage contro una a sfavore) sono suggestivi di associazione fisica tra loci;
* LOD ≤ -2 (100 probabilità a sfavore del linkage contro una a favore) indica assenza di associazione tra i loci.
* Un valore intermedio non esclude né conferma l’esistenza di associazione.

Non è un calcolo semplice perché bisogna conoscere: il tipo di trasmissione ereditaria, la penetranza e il tipo di mutazione, …

**MAPPATURA DEI GENI LINKAGE**

Con questo sistema dell’Associazione genetica classica, un limitato numero di geni umani sono stati MAPPATI sui cromosomi e sono stati usati dei DNA provenienti da 3 generazioni della stessa famiglia ed è stata studiata la trasmissione dei geni malattia con i vari marcatori.

1. L’assegnazione di geni a determinati cromosomi;
2. La prova genetica che più geni siano assieme sullo STESSO CROMOSOMA;
3. Il calcolo della distanza tra due loci in linkage sullo stesso cromosoma mediante la frequenza di ricombinazione.

Primi studi di mappatura genetica nell’uomo → anni ‘60-70.

Per molti anni risultati molto modesti: scarsità di siti polimorfici

Grazie ai marcatori sono state mappate:

* ABO – adenilatochinasi;
* ABO - sindrome unghia-rotula;
* Duffy- cataratta congenita;
* Rh – ellissocitosi;
* G6PD – emofilia;
* G6PD – daltonismo.

**ESEMPIO DI ASSOCIAZIONE CON MARCATORI GENETICI: LA SINDROME UNGHIA-ROTULA (NPS)**

La NPS è una malattia del tessuto mesenchimale che è caratterizzata da diverse patologie ossee. È una sindrome che interessa le unghie (ipoplasia) e la rotula (riduzione o assenza). Si trasmette con un carattere AD.

Immagine che contiene diagramma

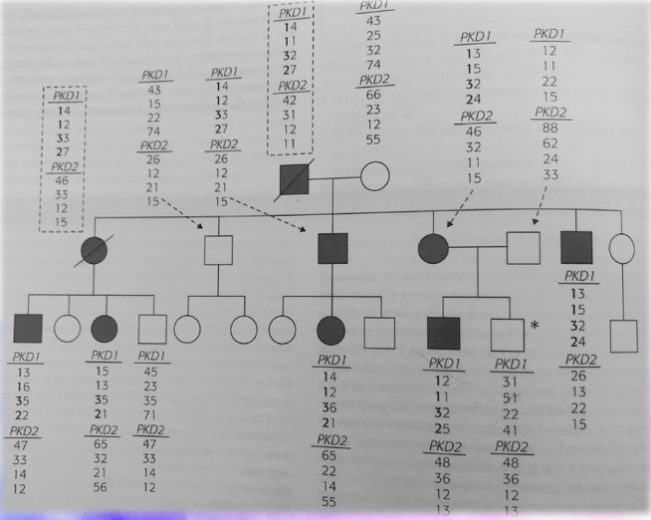
Descrizione generata automaticamente

È stato determinato il gruppo sanguigno (sistema AB0) degli individui sani e malati della famiglia. La maggior parte delle volte che è presente il gruppo sanguigno B, che mappa sul cromosoma 9 in posizione 9q34, si presenta la malattia(tranne che in soli due casi II3 e II5 probabilmente per un crossing over); questo sta ad indicare che il locus che determina la sindrome NPS è associato al locus del sistema ABO e quindi MAPPA sul cromosoma 9 in vicinanza della posizione 9q34. Quanto sono vicini lo si può definire dalla frequenza di ricombinazione.

Grazie al calcolo del LOD-SCORE l’ipotesi che i due loci siano associati è statisticamente probabile (LODSCORE = +3; poi mediante la FREQUENZA di RICOMBINAZIONE e ne stabilisce la distanza.

Un esempio reale di analisi di linkage è stato fatto in una famiglia di tre generazioni dove è stato mappato il gene malattia del rene policistico (malattia AD, PKD1 e PKD2 mappano su due cromosomi diversi). Per ogni gene sono stati analizzati 4 marcatori. L’aplotipo (insieme di marcatori) malattia si è scoperto che è 1-1-3-2. Sono riusciti a risalire, analizzando i figli, anche all’aplotipo dei parenti deceduti. Il probando ha confermato geneticamente che non ha l’aplotipo malattia.

**LINKAGE PRO**

* Permette di confermare i modelli di eredità non perfettamente conosciuti;
* Consente la diagnosi di patologie per le quali ancora non è noto il difetto molecolare;
* Permette di identificare portatori di malattie recessive.

**LINKAGE CONTRO**

* Applicabile soltanto all’interno di famiglia e in famiglie generose (almeno 3-4 generazioni);
* Adatto esclusivamente allo studio di malattie mendeliane (NO malattie multifattoriali).

Ad oggi viene usata insieme ad altri indagini più evolute. Nelle popolazioni in cui vi sono stesse caratteristiche cliniche viene utilizzata l’analisi di associazione.

**ASSOCIAZIONE E LINKAGE DISEQUILIBRIUM**

L'associazione genetica viene valutata mediante l'analisi comparativa della presenza di un determinato gene nella popolazione affetta rispetto alla popolazione di controllo. Questo viene fatto attraverso un campionamento che tiene conto di fattori come il sesso, l'età e l'etnia.

Il linkage disequilibrium (LD) è un fenomeno che si verifica quando, a livello di popolazione, specifiche combinazioni di alleli a due o più loci concatenati sono presenti insieme sullo stesso cromosoma con una frequenza maggiore rispetto a quanto ci si aspetterebbe per caso. Lo studio del linkage disequilibrium ci permette di comprendere come gli aplotipi, ovvero le combinazioni specifiche di alleli, si segregano nella popolazione.

Il concetto di linkage disequilibrium ci consente di considerare una popolazione come una grande famiglia discendente da un numero limitato di individui fondatori. In una popolazione clinicamente omogenea, possiamo trovare una correlazione tra un gene associato a una malattia e un particolare aplotipo. Il linkage disequilibrium si verifica quando i loci sono strettamente concatenati e le ricombinazioni tra di essi sono rare

Ricapitolando:

* Il linkage è una relazione fisica tra loci e determina associazione solo all’interno di famiglie;
* L’associazione è la ricorrenza statistica di due caratteri o alleli in una popolazione;
* La presenza di forte L.D consente di considerare una popolazione quasi come una famiglia. Pertanto, il test di associazione rappresenta anche un test di linkage.

Grazie agli studi sull’associazione e sul L.D, oggi è possibile determinare il gene di una malattia rara e, durante gli studi, essenziale è la scelta del gene candidato.

*Cosa rende un gene “candidato”?*

1. La proteina codificata dal gene ritenuto candidato dovrà risultare parte integrante del pathway responsabile della patogenesi della malattia: ad esempio dovrà esprimersi nel tessuto giusto e nelle cellule giuste.
2. Mutazioni di questo gene sono state riscontrate in malattie mendeliane con fenotipo corrispondente a quella multifattoriale in fase di analisi: ad esempio malattie dell’osso nel caso si voglia studiare l’osteoporosi.
3. Esperimenti con animali transgenici hanno dimostrato un suo coinvolgimento nel fenotipo corrispondente alla malattia in esame: ad esempio il gene ApoE come modello di aterosclerosi murina.
4. Studi di linkage hanno mappato il gene di interesse in una regione critica delineata da marcatori polimorfi.

Immagine che contiene diagramma

Descrizione generata automaticamente

Tramite l’analisi di famiglie, possiamo identificare come ? il cromosoma mediante queste tecniche la zona, clonare il gene e fare il sequenziamento e vedere qual è la sua posizione nucleotidica.